Thermo SCIENTIFIC

FRANÇAIS

Thermo Scientific™ Richard-Allan Scientific Chromaview® – Coloration Avancée Colorant de Gram Etalement Mode d'emploi

Discussion technique

Préparation
Un frottis monocouche sur une lame de verre propre.

Fixation
Plonger la lame dans du méthanol absolu ou fixer à la chaleur à l'aide d'une flamme.

Contrôle de qualité
L'utilisation d'une lame de contrôle avec des organismes à Gram positif et à Gram négatif connus est recommandée.

Procédure technique

Protocole de coloration standard

1. Plonger le frottis dans une solution de cristal violet pendant 1 minute.
   Étape facultative : ajouter 5 gouttes d'une solution de bicarbonate de sodium au frottis pour améliorer la rétention du cristal violet.
2. Rincer l'excès de colorant à l'eau déminéralisée pendant 30 secondes.
3. Plonger le frottis dans une solution iodée de Gram pendant 1 minute.
4. Rincer l'excès de colorant à l'eau déminéralisée pendant 30 secondes.
5. Plonger le frottis dans une solution de décoloration.
6. Rincer à l'eau déminéralisée pendant 30 secondes.
7. Plonger le frottis dans une solution de safranine O pendant 1 minute.
8. Rincer l'excès de colorant à l'eau déminéralisée pendant 30 secondes.
9. Sécher la lame avec un papier absorbant.
10. Examiner au microscope.

Résultats

Organismes à Gram positif : bleus
Organismes à Gram négatif : rouges

Remarques

Tous les réactifs des colorants doivent être conservés à température ambiante. Les réactifs du colorant de Gram sont réservés à l'utilisation « In Vitro ». Pour les informations de santé et de sécurité, référez-vous à la fiche de données de sécurité du matériau. Tous les réactifs sont stables et ne doivent pas former de précipités en conditions normales d'entreposage. Ces colorants ne doivent pas être dilués et sont prêts à l'emploi. Tous les colorants entrant dans ces compositions sont certifiés par la Biological Stain Commission (Commission de la coloration biologique).

Commentaires techniques

En cas de précipitation dans la solution de cristal violet, placer dans un four chaud (environ 35°C) et mélanger. La solution iodée de Gram peut présenter une perte en dilution au fil du temps. Une fois terminée, la lame est définitivement stable. Lors de colorations de Gram effectuées en milieu de culture, il faut considérer l'âge de la culture. Ceci peut affecter le degré de coloration Gram positif. Des traitements antibactériens peuvent également affecter la coloration Gram positif : il faut être conscient qu'une sur-coloration est plus probable.

Mode d'action probable

Les bactéries peuvent être classées en une ou deux familles selon l'épaisseur de la membrane cellulaire contenant des peptidoglycanes. Les bactéries à Gram positif ont une épaisse paroi cellulaire contenant des peptidoglycanes. Les bactéries à Gram négatif ont une fine paroi cellulaire contenant des peptidoglycanes. Les bactéries à Gram positif et à Gram négatif se colorent avec le colorant laque créé par une coloration au cristal violet et le mordant pour fixer l'iode. Cependant, au cours du rinçage avec une solution de décoloration, le colorant laque est complètement éliminé de la bactérie fine à Gram négatif. Un contraste va être obtenu sur la paroi cellulaire grâce à la solution de coloration de safranine O. La courte durée de rinçage de la solution de décoloration permet au colorant laque de rester à l'intérieur des parois des bactéries à Gram positif plus épaisses. Rincez avec précaution la lame à l'aide de la solution de décoloration. Un rinçage plus long avec la solution de décoloration peut pousser le colorant laque de cristal violet à s'échapper de la couche épaisse de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif.

Références

1. Bancroft, J.D. and Stevens, A. Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone, New York, NY, 1977.
2. Volk, W.A. Essentials of Medical Microbiology. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, PA, 1982.
3. Manual of Clinical Microbiology of the American Society for Microbiology, 30-45: 1970.
4. Hucker G.J. and Conn, H.J. Further Studies on the Methods of Gram Staining. NY Agric Exp Stain Technology Bulletin. No. 128, 1927.
5. Cutlin, B.W. 1975. Cellular Elongation Under the Influence of Antibacterial Agents: Way to mDifferentiate Coccobacilli from Cocci. J. Clin, Micro 1:102-105.

Informations de commande

Produit	Contenance	Qté.	REF
Kit de coloration de Gram (film)	1 Kit	1	87101
Solution de cristal violet	500 ml	1	88101
Solution iodée de Gram	500 ml	1	88102
Solution de coloration safranine O	500 ml	1	88103
Solution de décoloration	500 ml	1	88104
Solution de bicarbonate de sodium	8 ml	2/cs.	88116

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Anatomical Pathology

Richard-Allan Scientific
Subsidiary of Thermo Fisher Scientific
4481 Campus Drive, Kalamazoo, MI 49008
Phone: 1 (800) 522-7270
Phone: + 1 (269) 544-5600
www.thermoscientific.com/pathology

EC REP **Thermo Shandon Limited**
Subsidiary of Thermo Fisher Scientific
Tudor Road, Manor Park,
Runcorn, Cheshire WA7 1TA, UK
Phone: +44 (0) 1928 534 050
Fax: + 44 (0) 1928 534 049

CE IVD

Thermo SCIENTIFIC

IS87101FR R4/13